

ОБРАЩЕНИЕ
ЗАПЯТА

BEST AVAILABLE



PCT

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро

МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ
С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (PCT)

(51) Международная классификация изобретения: C08F 220/56; C08L 33/26	A1	(11) Номер международной публикации: WO 81/01290 (43) Дата международной публикации: 14 мая 1981 (14.05.81)
(21) Номер международной заявки: PCT/SU80/00104 (22) Дата международной подачи: 19 июня 1980 (19.06.80) (31) Номера приоритетных заявок: 2831351/05 2912551/05 2912552/05 (32) Датa приоритета: 6 ноября 1979 (06.11.79) 28 февраля 1980 (28.02.80) 28 февраля 1980 (28.02.80) (33) Страна приоритета: SU	SKY, Vladimir Vladislavovich, Kiev (SU). БИЛЬКО Иван Петрович [SU/SU]; Киев 252070, наб. Кре-шатишкая, д. 11, кв. 35 (SU) [BILKO, Ivan Petrovich, Kiev (SU)]. СОКОЛЮК Анатолий Михай-лович [SU/SU]; Киев 252192, ул. Мальшко, д. 3, кв. 525 (SU) [SOKOLYUK, Anatoly Mikhailovich, Kiev (SU)]. (81) Указанные государства: DE, GB, JP, US Опубликовано С отчетом о международном поиске	
(71) Заявитель (для всех указанных государств, кроме US): КИЕВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ [SU/SU]; Киев 252004, б-р Шевченко, д. 13 (SU) [KIEVSKY MEDITSINSKY INSTITUT, Kiev (SU)]. (72) Изобретатель, в (75) Изобретатель/Заявитель (только для US): ГАШИН-СКИЙ Владимир Владиславович [SU/SU]; Киев 252004, ул. Репина, д. 7/13, кв. 11 (SU) [GASHIN-		

(54) Title: POLYACRYLAMIDE GEL FOR MEDICAL AND BIOLOGICAL APPLICATION AND METHOD OF ITS PREPARATION

(54) Название изобретения: ПОЛИАКРИЛАМИДНЫЙ ГЕЛЬ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Abstract: A polyacrylamide gel for medical and biological application contains polyacrylamide and physiological solution with the following ratio of components (in % by weight):

polyacrylamide	3.0 - 28.0
physiological solution	72.0 - 97.0

The method of preparation of the said polyacrylamide gel comprises polymerization of acrylamide together with methylene-bis-acrylamide and elution of the final product, both polymerization and elution being carried out in the medium of the physiological solution. The polyacrylamide gel can be used as a base of nutrient mediums for growing microorganisms, artificial crystalline lenses and elastic contact lenses.

(57) Аннотация: Полиакриламидный гель для медицинских и биологических целей содержит полиакриламид и физиологический раствор при следующем содержании компонентов:

полиакриламид	3,0 - 28,0
физиологический раствор	72,0 - 97,0

Способ получения указанного полиакриламидного геля включает полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида и отмывку целевого продукта. Полимеризацию и отмывку целевого продукта ведут в среде физиологического раствора. Полиакриламидный гель может быть применен в качестве основы для питательных сред с целью выращивания микроорганизмов, искусственного хрусталика, мягкой контактной линзы.

ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов РСТ на титульных листах брошюр,
в которых публикуются международные заявки в соответствии с РСТ:

AT	Австрия	LI	Лихтенштейн
AU	Австралия	LU	Люксембург
BR	Бразилия	MC	Монако
CF	Центральноафриканская Республика	MG	Малагаскар
CG	Конго	MW	Малави
CH	Швейцария	NL	Нидерланды
CM	Камерун	NO	Норвегия
DE	Федеративная Республика Германии	RO	Румыния
DK	Дания	SE	Швеция
FR	Франция	SN	Сенегал
GA	Габон	SU	Советский Союз
GB	Великобритания	TD	Чад
HU	Венгрия	TG	Того
JP	Япония	US	Соединенные Штаты Америки
KP	Корейская Народно-Демократическая Республика		

ПОЛИАКРИЛАМИДНЫЙ ГЕЛЬ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ И
БИОЛОГИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

Область техники

Изобретение относится к полиакриламидному гелю
5 для медицинских и биологических целей и способу его
получения. Изобретение предназначено для использова-
ния в медицине и биологии.

Предшествующий уровень

В настоящее время в микробиологической практике
10 широко используется природный гель агар-агар. Однако
существует необходимость в замене природных материа-
лов синтетическими. Такой полимерный гель, как поли-
акриламидный гель, известен сравнительно давно и ис-
пользуется, благодаря своим положительным свойствам,
15 для различных целей. Однако возможности его приме-
нения в медицине и биологии ограничиваются наличием в
нем токсических исходных мономеров. Так, известна син-
тетическая среда для выращивания микроорганизмов
/пат.США № 3.046.201. Н.кл.195-100, опубл. 24.07.1962/,
20 содержащая от 3 до 20 весовых частей воды на I часть
водорастворимой смеси мономеров, в свою очередь, со-
держащей от 0,01 до 0,25 части того или иного алки-
лидин-био-акриламида на I часть акриламида.

Указанный полиакриламидный гель является основой,
25 в которую добавляют различные минеральные вещества
для питания микроорганизмов. Эти вещества могут быть
введены в основу в высоких концентрациях, для обес-
печения питательных потребностей отдельных видов мик-
роорганизмов.

Однако указанная синтетическая среда также содер-
жит определенное количество токсических исходных моно-
30 меров. Кроме того, так как синтетическая основа имеет
кислую реакцию /рН 3,5 - 4/, не любые питательные
субстраты могут быть введены в основу. Это обстоятель-
35 ство ограничивает возможность использования указанной
синтетической основы.

- 2 -

Способ приготовления питательной среды для куль-
тивирования микроорганизмов /Авт.св.СССР № 659619 М
кл.2 С I 2К1/06, опубл. 30.04.79/ предусматривает
5 получение полиакриламидного геля, являющегося плот-
ной основой для питательной среды, и последующую про-
питку его питательным субстратом до или после стерили-
зации. Указанный способ включает полимеризацию ак-
риламида и метилен-бис-акриламида в водной среде с
10 последующей отмывкой его от токсичных исходных моно-
меров, перед пропиткой питательным субстратом, водой.
Полученная указанным способом основа не содержит ток-
сичных непрореагировавших исходных мономеров, что
расширяет возможности его использования в микробио-
логии.

15 Однако, отмывка целевого продукта водой, хотя и
позволяет удалить из него токсичные вещества, но не
обеспечивает безвредного контакта полученного поли-
акриламидного геля с клетками, тканями и органами
животных и человека. Размеры полиакриламидного геля,
20 контактирующего с живыми организмами, не стабильны.

Раскрытие изобретения

Задачей изобретения является создание полиакрил-
амидного геля и способа его получения, технологические
особенности которого позволят обеспечить изотониче-
25 ность полиакриламидного геля и расширить области его
применения.

Поставленная задача решается тем, что известный
полиакриламидный гель, содержащий полимер акриламида
и метилен-бис-акриламида, согласно изобретению, допол-
нительно содержит физиологический раствор при следую-
30 щем содержании компонентов /в масс.%/:

полиакриламид	- 3,0 - 28,0
физиологический	
раствор	- 72,0 - 97,0

- 3 -

Указанный полиакриламидный гель не токсичен и обладает высокой пористостью, гидрофильностью, эластичностью, прозрачностью, термостабильностью. Кроме того, полиакриламидный гель обладает изоосмотичностью с микроорганизмами, клетками, тканями, органами, что позволяет стабилизировать его размеры, а также повысить насыщение его растворами различных веществ. Все это дает возможность осуществить безвредный контакт полиакриламидного геля с живыми организмами и тем самым значительно расширить возможность использования его в медицине и биологии.

Целесообразно для расширения возможности использования полиакриламидного геля в медицине и биологии, в качестве физиологического раствора использовать 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия, или 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия, или раствор Рингера-Лока, или раствор Эрла, или раствор Хэнкса, или среду Игла, или 5%-ный водный раствор глюкозы.

Рекомендуется, чтобы полиакриламидный гель в качестве физиологического раствора содержал 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия, при следующем содержании компонентов /в масс. %/:

	полиакриламид	- 6,0 - 15,0
	0,5%-ный водный раствор	
	хлористого натрия	- 85,0 - 94,0

Указанная модификация полиакриламидного геля позволяет получить наиболее оптимальную изоосмотичность с микроорганизмами, что позволяет использовать ее в качестве плотной основы питательных сред для культивирования микроорганизмов.

Возможно, чтобы полиакриламидный гель в качестве физиологического раствора содержал 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия при следующем содержании компонентов /в масс. %/:

	полиакриламид	- 5,0 - 18,0
	0,9%-ный водный раствор	
	хлористого натрия	- 82,0 - 95,0

- 4 -

5 Указанная модификация полиакриламидного геля позволяет получить наиболее оптимальную изоосмотичность с клетками животных и человека, что позволяет использовать ее в качестве носителя питательных субстратов при культивировании культур клеток.

Предлагается, чтобы полиакриламидный гель в качестве физиологического раствора содержал 5%-ный водный раствор глюкозы при следующем содержании компонентов /в масс.%/:

10	полиакриламид	- 4,0 - 20,0
	5,0%-ный водный раствор	
	глюкозы	- 80,0 - 96,0

15 Указанная модификация полиакриламидного геля обеспечивает оптимальную изоосмотичность с живыми организмами и применяется в тех случаях, когда присутствие хлористого натрия нежелательно.

20 Поставленная задача решается также тем, что в известном способе получения полиакриламидного геля для медицинских и биологических целей, включающем полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида с последующей отмывкой целевого продукта, согласно изобретению, полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида, а также отмывку целевого продукта ведут в среде физиологического раствора.

25 Способ позволяет получить полиакриламидный гель, который может быть использован в качестве плотной основы для выращивания практически всех видов микроорганизмов, в качестве искусственного хрусталика, контактной линзы.

30 Рекомендуется в качестве физиологического раствора использовать 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия, или 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия, или раствор Рингер-Лока, или раствор Эрла, или раствор Хэнкса, или среду 199, или среду Игла, или 5%-ный

35 водный раствор глюкозы.

- 5 -

Указанная модификация способа позволяет расширить возможности использования полиакриламидного геля в медицине и биологии.

5 Целесообразно полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида вести в реакторе, внутренняя полость которого моделирует форму искусственного хрусталика, с последующей отмывкой целевого продукта, причем полимеризацию и отмывку ведут в среде 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия.

10 Указанная модификация способа позволит применить полиакриламидный гель в качестве искусственного хрусталика. При этом уменьшается травматизация тканей глаза при имплантации вследствие выполнения минимальных разрезов, обеспечения полной ареактивности оболочек глаза.

15 Рекомендуется полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида вести в реакторе, внутренняя полость которого моделирует форму контактной линзы, с последующей отмывкой целевого продукта, причем полимеризацию и отмывку ведут в среде 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия.

20 Указанная модификация способа позволит применить полиакриламидный гель в качестве контактной линзы. При этом обеспечивается длительное непрерывное ношение при коррекции аномалий рефракции в широких пределах.

Лучший вариант осуществления изобретения.

30 Полиакриламидный гель получают путем полимеризации акриламида и метилен-бис-акриламида или иного водорастворимого алкилидин-бис-акриламида. Реакционная смесь обычно содержит 80-99,5 масс.% акриламида, 0,5-20 масс.% метилен-бис-акриламида или другого водорастворимого алкилидин-бис-акриламида. Исходные мономеры растворяют в физиологическом растворе. В качестве физиологического раствора используют: 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия или 0,9%-ный водный

- 6 -

раствор хлористого натрия, или 5%-ный водный раствор глюкозы, или растворы Рингер-Лока, Хэнкса, Эрла, или среды I99, Игла. Варьируя количества исходных мономеров в реакционной смеси, можно получать полиакриламидные гели различной плотности и эластичности.

Полимеризация исходных мономеров может протекать без нагрева или при нагревании реакционной смеси, добавлении известных инициаторов, катализаторов. Скорость реакции полимеризации прямо пропорциональна температуре, количеству катализатора и интенсивности облучения. Обычно катализаторы добавляют в количестве 0,05 - 0,1 масс% от количества исходных мономеров.

Реакционная смесь может быть также приготовлена и путем смешивания сухих порошкообразных кономеров с последующим растворением в физиологическом растворе. Для ускорения растворения физиологический раствор нагревается. Полимеризацию реакционной смеси можно осуществлять в объеме заданной формы - в стеклянных, металлических, керамических емкостях, а также емкостях из синтетических материалов. Получаемый в процессе полимеризации гель повторяет форму и размеры используемой емкости.

Процесс полимеризации можно осуществлять в реакторах, внутренняя полость которых моделирует форму известных контактных линз, либо форму известных монокристаллических искусственных хрусталиков, что позволяет использовать полиакриламидный гель в качестве мягкой контактной линзы, либо в качестве искусственного хрусталика. Условия проведения процесса полимеризации аналогичны приведенным выше. После полимеризации осуществляют отмывку полученного полиакриламидного геля физиологическими растворами.

Отмывка геля от исходных мономеров, не вступивших в реакцию полимеризации, может осуществляться в обычных условиях и при повышенной температуре. При

- 7 -

этом исходные мономеры, не вступившие в реакцию, растворяются в физиологическом растворе и переходят из геля в него. Сменяя физиологический раствор, уда-

5 ется полностью удалить из геля токсичные продукты. Обычно для этого достаточно троекратной смены раст-
вора. Нагревание ускоряет процесс отмывки геля. Про-
цесс отмывки геля осуществляется аналогично описан-
ному выше и при получении мягкой контактной линзы
или хрусталика. Полученный гель поддается штамповке,
10 разрезанию. Полиакриламидный гель после отмывки и
получения необходимой формы подвергают стерилизации.

Стерилизация геля может быть осуществлена темпе-
ратурным, радиационным и химическим путем. Выбор ме-
тода стерилизации и его режим определяются условиями
15 конкретной задачи. После стерилизации гель становит-
ся пригодным для использования в качестве плотной ос-
новы для получения питательных сред с целью культиви-
рования микроорганизмов, либо искусственного хруста-
лика, либо мягкой контактной линзы и может храниться
20 до момента его использования.

Насыщение геля субстратами для питания микроор-
ганизмов и культур клеток может быть осуществлено до
или после стерилизации. Выбор метода насыщения опре-
деляется конкретным составом питательного субстрата.
25 При наличии в питательном субстрате термолабильных
компонентов насыщение осуществляется после стерили-
зации. Состав питательных субстратов определяется
пищевыми потребностями конкретных групп или видов
микроорганизмов и клеток. Для насыщения полученного
30 в соответствии с изобретением полиакриламидного геля
могут быть использованы питательные субстраты, обес-
печивающие пищевые потребности практически всех из-
вестных видов микроорганизмов и клеток, включая нату-
ральные, полусинтетические и синтетические составы
35 субстратов или их смеси.

- 8 -

Для определения качества питательных сред, а также изучения биологических свойств микроорганизмов, клеток животных и человека используются известные методы исследования.

5 Известными методами определяются также оптические свойства мягких контактных линз и искусственных хрусталиков из полиакриламидного геля, содержащего физиологический раствор.

10 В дальнейшем сущность изобретения поясняется приведенными ниже примерами.

Пример I.

15 Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий масс.% полиакриламид - II, 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия - 89, получали следующим образом. Предварительно готовили три раствора /А, В, С/ по следующей методике:

/указаны количества исходных компонентов из расчета на 1000 мл основного раствора/: приготовление раствора А - 5 мл тетраметилэтилендиамина растворяли в 995 мл 0,5%-ного водного раствора хлористого натрия и хранили в темной посуде при температуре 4°C до употребления/ обычный срок хранения 6-8 месяцев/; приготовление раствора В - 7,35 г метилен-бис-акриламида растворяли в 350 мл 0,5%-ного водного раствора хлористого натрия, подогретого до температуры 60°C, а затем добавляли 280 г акриламида, который размешивали до полного растворения. Полученный раствор фильтровали через ватно-марлевый фильтр, добавляли до 1000 мл 0,5%-ного водного раствора хлористого натрия и хранили в темной посуде при температуре 4°C в условиях холодильника до употребления/ обычный срок хранения - 6-8 месяцев/; приготовление раствора С - 1,4 г персульфата аммония растворяли в 1000 мл 0,5%-ного водного раствора хлористого натрия и хранили в темной посуде до употребления/ обычный срок хранения - 4-6 недель.

- 9 -

Из приготовленных растворов /А,В,С/ готовили реакционную смесь. Для этого к I объему раствора А добавляли 2 объема раствора В и 4 объема раствора С.

5 Реакционную смесь заливали в щель, образованную двумя плоскопараллельными стеклянными пластинами толщиной 3 мм. Процесс полимеризации протекал в течение 15 минут. Стеклянные пластины разъединяли и освобождали образовавшуюся пластину полиакриламидного геля. Из пластины геля штамповали круглые диски диаметром 10 70 мм. Полученные диски помещали в емкость и заливали 0,5%-ным водным раствором хлористого натрия из расчета 20 мл раствора на I диск. Диски далее выдерживали в 0,5%-ном водном растворе хлористого натрия в течение 12 часов, заменяя раствор через каждые 4 часа.

15 По истечении 12 часов, раствор сливали.

Полученный полиакриламидный гель не токсичен, обладает высокой пористостью, гидрофильностью, эластичностью, прозрачностью, термостабильностью.

20 Клетки различных видов микроорганизмов, нанесенные на гель, длительное /3 месяца и более/ время сохраняли форму, размеры и жизнеспособность, что свидетельствовало об изоосмотичности данного геля с клетками микроорганизмов.

25 Гель хорошо насыщался субстратами для питания микроорганизмов, например, мясо-пептонным бульоном, и поэтому он был использован в качестве плотной основы для получения питательных сред с целью культивирования различных групп микроорганизмов /эшерихии, сальмонеллы, шигеллы, протей, стафилококк и др./.

30 Для насыщения отмытые диски заливали бульоном Хоттингера с аминным азотом 300 мг % из расчета 10 мл бульона на I диск и стерилизовали при температуре 120°C 30 минут. За это время происходило насыщение бульоном и стерилизация. Насыщенные бульоном стерильные диски, соблюдая стерильность, помещали в стерильные чашки Петри, просушивали и засеивали кишечной па-

35



- 10 -

лочкой. Микроорганизмы подвергали инкубации при температуре 37°C в течение суток. За это время на поверхности дисков вырастала культура кишечной палочки в виде колоний.

5 При росте на геле микроорганизмы сохраняли биологические свойства: характер роста и размножения, форму клеток и колоний, морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические, серологические свойства, антигенную структуру, фаголизависимость.

10 При этом биомасса выросших микроорганизмов при одинаковой посевной дозе превышала биомассу тех же микроорганизмов, выросших на мясо-пептонном агаре.

Также определялась выживаемость исследованных видов микроорганизмов на полиакриламидном геле в соответствии с изобретением и на известном геле. Результаты сведены в таблицу I.

20	Виды и штамм микроорганизма	Посевная доза - колониеобразующих единиц	Среднее количество выросших колоний /полиакриламидный гель в соответствии с изобретением/	Среднее количество выросших колоний /известная питательная среда/
25	Staphylococcus aureus 209P	100	94	82
	E. coli K-17	100	96	80
	E. coli K-12	100	92	84
	B. cereus 8035	100	88	72
	B. mesentericus 1027	100	94	82
30	B. subtilis 83	100	92	76
	B. megaterium 654	100	89	81
	Sh. sonnei	100	76	71
	Sh. flexneri	100	84	70
	Pseudomonas aeruginosa I65	100	92	86

- II -

Пример 2.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 8,0, физиологический раствор - 92,0, получали способом, описанным в примере I. В качестве физиологического раствора использовали 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия.

Полученный полиакриламидный гель был нетоксичен, обладал высокой пористостью, гидрофильностью, эластичностью, прозрачностью, термостабильностью. Гель хорошо насыщался субстратами для питания микроорганизмов, клеток животных и человека.

Нанесенная на поверхность геля 2%-ная суспензия эритроцитов барана / 0,2мл/ не подвергалась гемолизу, а нанесенные фибробласты, клетки HeLa и KB сохраняли форму, размеры и жизнеспособность в течение до 2 суток при температуре 4°C. Внутривентрикулярная имплантация белым мышам пластин полученного геля размерами 1см x 1см x 0,3 см в течение 5 суток не изменяла первоначальных размеров пластин. Пластины оставались прозрачными, не вызывали реактивных изменений со стороны окружающих органов и тканей, хорошо переносились животными даже при одномоментной имплантации одному животному 2-3 пластин.

Пример 3.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 3,0, физиологический раствор - 97,0, получали способом, описанным в примере I. В качестве физиологического раствора использовали раствор Рингера-Лока.

Свойства полученного полиакриламидного геля аналогичны свойствам, описанным в примере 2.

Форма, размеры и жизнеспособность фибробластов, клеток HeLa и KB сохранялись до 4 суток при температуре 4°C.

- 12 -

Пример 4.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - II,0, физиологический раствор - 89,0, получали способом, описанным в примере I. В качестве физиологического раствора использовали раствор Хэнкса.

Свойства полученного полиакриламидного геля были сходны со свойствами, описанными в примере 2.

Пластины геля были окрашены в розовый цвет, а форма, размеры и жизнеспособность фибробластов, клеток HeLa и KB сохранялись на указанном геле до 6 суток при температуре 4°C.

Полученные пластины геля насыщали средой роста для культур клеток, содержащей 60% среды I99, 20% гидролизата лактальбумина, 20% сыворотки крупного рогатого скота, и использовали для выращивания клеток HeLa. При этом клетки HeLa вырастали на поверхности геля в виде типичного монослоя в обычные сроки.

Пример 5.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 20,0, физиологический раствор - 80,0 получали способом, описанным в примере I.

В качестве физиологического раствора использовали раствор Эрла.

Свойства полученного полиакриламидного геля были аналогичны свойствам, описанным в примерах 2,4.

Пример 6.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 5,0, физиологический раствор - 95,0, получали способом, описанным в примере I.

В качестве физиологического раствора использовали среду I99.

- 13 -

Свойства полученного полиакриламидного геля были сходны со свойствами, описанными в примерах 2, 4.

5 Форма, размеры и жизнеспособность фибробластов, клеток HeLa и KB на указанном геле сохранялись до 8-10 суток при температуре 4°C.

10 Выросшие на пластинах геля клетки были хорошо прикреплены к гелю, что позволило переносить вырезанные из пластин блоки геля с клетками и исследовать под микроскопом, а также заключать блоки с клетками в микрокамеры.

Пример 7.

15 Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий полиакриламид - 15,0, физиологический раствор - 85,0, получали способом, описанным в примере I.

В качестве физиологического раствора использовали среду I99.

20 Свойства полученного полиакриламидного геля были сходны со свойствами, описанными в примерах 2, 4. Выросший на пластинах геля монослой клеток легко смывался, что позволяло легко накапливать биомассу клеток.

Пример 8.

25 Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс%/ полиакриламид - 7,0, физиологический раствор - 93,0, получали способом, описанным в примере I.

30 В качестве физиологического раствора использовали среду Игла.

Свойства полученного полиакриламидного геля были сходны со свойствами, описанными в примерах 2, 7.

35 Пластины геля, насыщенные средой роста, были использованы для выращивания клеточных штаммов. При этом наблюдали хороший рост диплоидных клеток.

- 14 -

Пример 9.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 10,0, физиологический раствор - 90,0, получали способом, описанным в примере I. В качестве физиологического раствора использовали 5%-ный водный раствор глюкозы.

Свойства полученного полиакриламидного геля были сходны со свойствами, описанными в примере 2.

Кроме того, на данном геле форма, размеры и жизнеспособность фибробластов, клеток HeLa и KB сохранялись до 3 суток при 4°C.

Наряду с этим, на данном геле было отмечено ускорение роста и увеличение биомассы микроорганизмов, содержащих сахаролитические ферменты. Отсутствие в составе геля хлористого натрия значительно упростило определение количества хлористого натрия в клетках микроорганизмов.

Пример 10.

Полиакриламидный гель согласно изобретению, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - II, 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия - 89,0, был получен следующим образом. Предварительно готовились три основных раствора /А, В, С/. Ниже приведены количества исходных компонентов из расчета на 1 л растворов. Приготовление раствора А - 5 мл тетреметилэтилендиамина растворяли в 995 мл 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия. Приготовление раствора В - 7,35 г метилен-бис-акриламида растворяли в 350 мл 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия, подогретого до температуры 60°C, добавляли 280 г акриламида, размешивали, фильтровали и доливали 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия до 1000 мл. Приготовление раствора С - 1,4 персульфата аммония растворяли в 1000 мл 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия.

Из основных растворов готовили реакционную смесь. При этом растворы А, В и С брались в объемных соотношениях 1:2:4.

- 15 -

Объемные соотношения основных растворов при получении рабочей смеси могут быть изменены в зависимости от необходимой степени эластичности искусственного хрусталика.

5 0,5 мл приготовленной реакционной смеси заливали в реактор, внутренняя полость которого моделирует од-
новременно как оптическую, так и опорную части хруста-
лика. Время полимеризации реакционной смеси - 3 мин.
при температуре 20°C. По истечении указанного времени
10 полученный искусственный хрусталик извлекался из нее
указанного реактора. Искусственный хрусталик характе-
ризуется следующими параметрами: радиус кривизны пе-
редней поверхности - 27,22 мм, задняя поверхность -
плоская, диаметр оптической части - 6 мм, преломле-
ние + 18,0 Д.

15 После извлечения хрусталик отмывался в 20 мл 0,9%-
ного водного раствора хлористого натрия в течение 1 су-
ток с трехкратной сменой раствора. Хрусталик стерили-
зовался в 0,9%-ном водном растворе хлористого натрия
20 в течение 40 мин. кипячением и хранился в этом же
растворе до употребления в герметически закрытом со-
суде.

На афакичном глазу с сохраненной задней капсулой
хрусталика производили разрез в корнеосклеральной или
25 корнеальной зоне длиной до 4,5 мм. В образовавшееся
отверстие пинцетом вставляли свернутый хрусталик,
продвигали через колобому или зрачок в заднюю камеру.
После размыкания бранш пинцета за счет эластичности
хрусталик расправлялся, опорные части упирались в эк-
30 ватор сумки, что способствовало центровке линзы и ее
надежной фиксации в силу пружинящих свойств опорных
частей. Использование предлагаемого хрусталика возмож-
но как при применении традиционных методов экстракап-
сулярной экстракции катаракты одномоментно или в ка-
35 честве второго этапа, так и при использовании факоэмуль-
сификации.

- 16 -

Показатель	Предлагаемый искусственный хрусталик	Известный искус- ственный хруста- лик из полиме- тилметакрилата
5	Длина разреза, мм	4,5
		6

В послеоперационном периоде отмечалась умеренно выраженная инъекция глазного яблока, соизмеримая с контролем. Стихание признаков воспаления при активном использовании антибиотиков, гормональных препаратов и мидриатиков проходило в срок до 3-4 недель. Результаты проведенных оперативных вмешательств прослежены в течение 24 месяцев. Отмечены: отсутствие признаков хронического воспаления, надежная фиксация имплантата, стабильная рефракционная способность.

Пример II.

Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 5,0, физиологический раствор - 95, получали способом, описанным в примере 10. В качестве физиологического раствора использовали 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия. Полимеризацию проводили в реакторе, внутренняя полость которого моделирует форму известной контактной линзы.

Получена мягкая контактная линза со следующими параметрами: радиус кривизны передней поверхности - 8,2 мм, радиус кривизны задней поверхности - 7,7 мм, диаметр - 14,5 мм, преломление - 1,75 Д.

В эксперименте на животных / 10 кролей/ проводились опыты по длительному непрерывному помещению на роговицу мягких контактных линз на срок 2-4 недели.

Контролировались следующие параметры: смещаемость, состояние роговичного эпителия при помощи биомикроскопии с флюоросцеином, реакция конъюнктивы глазного яблока и век. Отмечена умеренная смещаемость линз, не

- 17 -

превышающая 1 мм, не обнаружено явлений аллергизации или раздражения конъюнктивы, отека или эрозирования эпителия роговой оболочки.

- 5 В эксперименте на авторах при длительном непрерывном ношении мягких контактных линз /сроком 1-1,5 месяца/ отмечено быстрое привыкание к ним, отсутствие неприятных ощущений. Установлена полная ареактивность конъюнктивы глазного яблока и век, не отмечено явлений отека и эрозирования эпителия роговой оболочки.
- 10 Сместаемость мягких контактных линз не превышала 1 мм.

Пример 12.

- 15 Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид- 5,0, физиологический раствор - 95,0, получали способом, описанным в примере 10. В качестве физиологического раствора использовали 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия. Полимеризацию проводили в реакторе, внутренняя полость которого моделирует форму известной контактной линзы.

- 20 Полученную мягкую контактную линзу нулевой диоптрийности толщиной 0,4 мм, диаметром 15 мм, извлеченную из упомянутого реактора, промывали способом, указанным в примере 10 и помещали в 1%-ный водный раствор атропина на 40 мин. После извлечения из раствора линзу помещали на глаз животного. Расширение зрачка было получено через 16 мин. /начало/, максимальный эффект наступал через 40 мин. и был прослежен в течение 5 суток.

Пример 13 /сравнительный/

- 30 Полиакриламидный гель, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 2,0, физиологический раствор - 98,0, получали способом, описанным в примере 1. В качестве физиологического раствора использовали 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия. При этом полученный
- 35 полиакриламидный гель имел полужидкую консистенцию, не позволяющую получать пластины геля, осуществлять

- 18 -

их отмывку и насыщение субстратами для питания микроорганизмов, клеток животных и человека, посев микроорганизмов и клеток.

5 После добавления жидких питательных субстратов гель растворялся в них и терял гелевую структуру.

Пример I4 /сравнительный/

10 Полиакриламидный гель в соответствии с изобретением, содержащий /в масс.%/ полиакриламид - 29,0, физиологический раствор - 71,0 получали способом, описанным в примере I.

15 В качестве физиологического раствора использовали 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия. При этом полученный полиакриламидный гель имел очень плотную консистенцию и был ломок при изгибах. Отмывка 20 пластин геля от исходных компонентов была малоэффективной, требовала длительного времени /15 и более суток/. Гель плохо насыщался субстратами для питания микроорганизмов и культур клеток, быстро высыхал с появлением трещин при 37°C и плохо фиксировался в чашках Петри.

Промышленная применимость

25 Полиакриламидный гель может использоваться в качестве плотной основы для нанесения питательных субстратов, необходимых для роста, размножения и развития микроорганизмов.

Использование полиакриламидного геля в качестве плотной основы питательных сред обеспечивает последним микробиологическую инертность, что повышает выход биомассы микроорганизмов в 1,5-2 раза.

30 Полиакриламидный гель как синтетический препарат имеет известный и постоянный состав, что обеспечивает воспроизводимость плотной основы питательных сред и связанную с этим стандартизацию микробиологических исследований, позволяющую сопоставлять результаты различных лабораторий.

35

- 19 -

Пластины полиакриламидного геля могут выполняться круглыми по диаметру чашек Петри, квадратными или прямоугольными по размерам покровных и предметных стекол, а также в виде блоков различных размеров и формы и использоваться после насыщения питательными субстратами для макро- и микрокультивирования различных групп, видов и штаммов микроорганизмов, клеток животных и человека.

Получение полиакриламидного геля может быть автоматизировано.

Пластины геля не требуют специальных методов стерилизации. Стерилизацию их можно осуществлять общепринятыми методами и в обычных условиях.

Возможно хранение готовых к употреблению пластин полиакриламидного геля длительное время.

- 20 -

ПРЕДМЕТ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 5 I. Полиакриламидный гель для медицинских и биологических целей, содержащий полимер акриламида и метилен-бис-акриламида, характеризующийся тем, что полиакриламидный гель дополнительно содержит физиологический раствор при следующем содержании компонентов /в масс. %/:
- полиакриламид - 3,0 - 28,0
физиологический раствор - 72,0 - 97,0
- 10 2. Полиакриламидный гель для медицинских и биологических целей по притязанию I, характеризующийся тем, что в качестве физиологического раствора используют 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия или 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия, или раствор Рингер-Лока, или раствор Эрла, или раствор Хэнкса, или среду - 199, или среду Игла, или 5%-ный водный раствор глюкозы.
- 15 3. Полиакриламидный гель для медицинских и биологических целей по притязанию 2, характеризующийся тем, что в качестве физиологического раствора он содержит 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия при следующем содержании компонентов /в масс. %/:
- 20 полиакриламид - 6,0 - 15,0
0,5%-ный водный
25 раствор хлористого
натрия - 85,0 - 94,0
- 30 4. Полиакриламидный гель для медицинских и биологических целей по притязанию 2, характеризующийся тем, что в качестве физиологического раствора он содержит 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия, при следующем содержании компонентов /в масс. %/:
- 35 полиакриламид - 5,0 - 18,0
0,9%-ный водный
раствор хлористого
натрия - 82,0 - 95,0

- 21 -

5. Полиакриламидный гель для медицинских и биологических целей по притязанию 2, характеризующийся тем, что в качестве физиологического раствора он содержит 5%-ный водный раствор глюкозы при следующем содержании компонентов /в масс. %/:

полиакриламид - 4,0-20,0

5%-ный водный раствор

глюкозы - 80,0-96,0

6. Способ получения полиакриламидного геля для медицинских и биологических целей по притязанию I, включающий полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида с последующей отмывкой целевого продукта, характеризующийся тем, что полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида, а также отмывку целевого продукта ведут в среде физиологического раствора.

7. Способ получения полиакриламидного геля для медицинских и биологических целей по притязанию 6, характеризующийся тем, что в качестве физиологического раствора используют 0,5%-ный водный раствор хлористого натрия или 0,9%-ный водный раствор хлористого натрия, или раствор Рингер-Лока, или раствор Эрла, или раствор Хэнкса, или среду - I99, или среду Игла, или 5%-ный водный раствор глюкозы.

8. Способ получения полиакриламидного геля для медицинских и биологических целей по притязанию 6, характеризующийся тем, что полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида ведут в реакторе, внутренняя полость которого моделирует форму искусственного хрусталика, с последующей отмывкой целевого продукта, причем полимеризацию и отмывку ведут в среде 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия.

9. Способ получения полиакриламидного геля для медицинских и биологических целей по притязанию 6, характеризующийся тем, что полимеризацию акриламида и метилен-бис-акриламида ведут в реакторе, внутренняя полость которого моделирует форму контактной линзы, с последующей отмывкой целевого продукта, причем полиме-

-22 -

ризацию и отмывку ведут в среде 0,9%-ного водного раствора хлористого натрия.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка № PCT/SU 80/00104

<p>I. КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (если применяются несколько классификационных индексов, укажите все)¹</p> <p>В соответствии с Международной классификацией изобретений (МКИ) или как в соответствии с национальной классификацией, так и с МКИ² C08F 220/56; C08L 33/26</p>																	
<p>II. ОБЛАСТИ ПОИСКА</p> <p>Минимум документации, охваченной поиском⁴</p> <table border="1"> <tr> <td>Система классификации</td> <td>Классификационные рубрики</td> </tr> <tr> <td>МКИ² МКИ немецкая</td> <td>C08F 220/56; C08L 33/26; C12K 1/06 C08f 15/02; C08f 29/00 39c 25/01 .../...</td> </tr> </table> <p>Документация, охваченная поиском и не входившая в минимум документации, в той мере, насколько она входит в область поиска⁴</p>			Система классификации	Классификационные рубрики	МКИ ² МКИ немецкая	C08F 220/56; C08L 33/26; C12K 1/06 C08f 15/02; C08f 29/00 39c 25/01 .../...											
Система классификации	Классификационные рубрики																
МКИ ² МКИ немецкая	C08F 220/56; C08L 33/26; C12K 1/06 C08f 15/02; C08f 29/00 39c 25/01 .../...																
<p>III. ДОКУМЕНТЫ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К ПРЕДМЕТУ ПОИСКА¹⁴</p> <table border="1"> <tr> <th>Категория¹⁵</th> <th>Ссылка на документ¹⁶, с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска¹⁷</th> <th>Относится к пункту формулы №18</th> </tr> <tr> <td>A</td> <td>GB, A, 1286438, опубликован 6 сентября 1972, Merk & Co Inc.</td> <td>I-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>GB, A, 1319751, опубликован 6 июня 1973, Ceskoslovenska Akademie Ved</td> <td>I-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US, A, 3046201, опубликован 24 июля 1962, American Cyanamid Company</td> <td>I-9</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>SU, A, 659619, опубликован 30 апреля 1979, Киевский медицинский институт имени академика А.А.Богомольца</td> <td>I-9</td> </tr> </table>			Категория ¹⁵	Ссылка на документ ¹⁶ , с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска ¹⁷	Относится к пункту формулы №18	A	GB, A, 1286438, опубликован 6 сентября 1972, Merk & Co Inc.	I-9	A	GB, A, 1319751, опубликован 6 июня 1973, Ceskoslovenska Akademie Ved	I-9	A	US, A, 3046201, опубликован 24 июля 1962, American Cyanamid Company	I-9	X	SU, A, 659619, опубликован 30 апреля 1979, Киевский медицинский институт имени академика А.А.Богомольца	I-9
Категория ¹⁵	Ссылка на документ ¹⁶ , с указанием, где необходимо, частей, относящихся к предмету поиска ¹⁷	Относится к пункту формулы №18															
A	GB, A, 1286438, опубликован 6 сентября 1972, Merk & Co Inc.	I-9															
A	GB, A, 1319751, опубликован 6 июня 1973, Ceskoslovenska Akademie Ved	I-9															
A	US, A, 3046201, опубликован 24 июля 1962, American Cyanamid Company	I-9															
X	SU, A, 659619, опубликован 30 апреля 1979, Киевский медицинский институт имени академика А.А.Богомольца	I-9															
<p>¹⁵ Особые категории ссылочных документов¹⁵:</p> <p>„А“ документ, определяющий общий уровень техники.</p> <p>„Е“ более ранний патентный документ, но опубликованный на дату международной подачи или после нее.</p> <p>„L“ документ, ссылка на который делается по особым причинам, отличным от упомянутых в других категориях.</p> <p>„О“ документ, относящийся к устному раскрытию, применению, выставке и т. д.</p> <p>„Р“ документ, опубликованный до даты международной подачи, но на дату испрашиваемого приоритета или после нее.</p> <p>„Т“ более поздний документ, опубликованный на или после даты международной подачи или даты приоритета и не порочащий заявку, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение.</p> <p>„Х“ документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска.</p>																	
<p>IV. УДОСТОВЕРЕНИЕ ОТЧЕТА</p> <table border="1"> <tr> <td>Дата действительного завершения международного поиска¹⁹ 25.07.80</td> <td>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске²⁰ 16 сентября 1980</td> </tr> <tr> <td>Международный поисковый орган¹</td> <td>Подпись уполномоченного лица²⁰ Ю.Плотников</td> </tr> </table>			Дата действительного завершения международного поиска ¹⁹ 25.07.80	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске ²⁰ 16 сентября 1980	Международный поисковый орган ¹	Подпись уполномоченного лица ²⁰ Ю.Плотников											
Дата действительного завершения международного поиска ¹⁹ 25.07.80	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске ²⁰ 16 сентября 1980																
Международный поисковый орган ¹	Подпись уполномоченного лица ²⁰ Ю.Плотников																

ПРОДОЛЖЕНИЕ ТЕКСТА, НЕ ПОМЕСТИВШЕГОСЯ НА ВТОРОМ ЛИСТЕ

II.

.../...

US 195-100; 260-89.7; 526-307

GB 2(6)P; C3P; C6F

FR Группа XIV класс 5,8

CH 37h

AT 39b; 12; 14

CA 400; 401; 402

V. ☐ ЗАМЕЧАНИЯ, КАСАЮЩИЕСЯ ВЫЯВЛЕННЫХ ПУНКТОВ ФОРМУЛЫ, НЕ ПОДЛЕЖАЩИХ ПОИСКУ¹⁰

Настоящий отчет о международном поиске не охватывает некоторых пунктов формулы в соответствии со статьей 17(2)(a) по следующим причинам:

1. ☐ Пункты формулы №№ _____, т. к. они относятся к объектам, по которым настоящий Орган не проводит поиск.

2. ☐ Пункты формулы №№ _____, т. к. они относятся к частям международной заявки, настолько не соответствующим предписанным требованиям, что по ним нельзя провести полноценный поиск, а именно:

VI. ☐ ЗАМЕЧАНИЯ, КАСАЮЩИЕСЯ ОТСУТСТВИЯ ЕДИНСТВА ИЗОБРЕТЕНИЯ¹¹

В настоящей международной заявке Международный поисковый орган выявил несколько изобретений:

1. ☐ Т. к. все необходимые дополнительные пошлины (тарифы) были уплачены своевременно, настоящий отчет о международном поиске охватывает все пункты формулы изобретения, по которым можно провести поиск.

2. ☐ Т. к. не все необходимые дополнительные пошлины (тарифы) были уплачены своевременно, настоящий отчет о международном поиске охватывает лишь те пункты формулы изобретения, за которые были уплачены пошлины (тарифы), а именно:

3. ☐ Необходимые дополнительные пошлины (тарифы) не были уплачены своевременно. Следовательно, настоящий отчет о международном поиске ограничивается изобретением, упомянутым первым в формуле изобретения; оно охвачено пунктами:

Замечания по возражению

☐ Уплата дополнительных пошлин (тарифов) за поиск сопровождалась возражением заявителя

☐ Уплата дополнительных пошлин (тарифов) за поиск не сопровождалась возражением заявителя

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/SU 80/00104

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ³		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC ³ C 08 F 220/56; C 08 L 33/26		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁴		
Classification System	Classification Symbols	
IPC ²	C 08 F 220/56; C 08 L 33/26; C 12 K 1/06	
IPC	C 08 15/02; C 08 f 29/00	
German	39 c 25/01	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are included in the Fields Searched ⁵		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ¹⁴		
Category ⁶	Citation of Document, ¹⁶ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹⁷	Relevant to Claim No. ¹⁸
A	GB, A, 1288438, published 6 September 1972, Merk & Co Inc.	1-9
A	GB, A, 1319751, published 6 June 1973, Ceskoslovenska Akademie Ved	1-9
A	US, A, 3046201, published 24 July 1962, American Cyanamid Company	1-9
X	SU, A, 659619, published 30 April 1979, Kievsky meditsinsky institut imeni akademika A. A. Bogomoltsa	1-9
<p>* Special categories of cited documents: ¹⁵</p> <p>"A" document defining the general state of the art</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document cited for special reason other than those referred to in the other categories</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but on or after the priority date claimed</p> <p>"T" later document published on or after the international filing date or priority date and not in conflict with the application, but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search ¹		Date of Mailing of this International Search Report ²
25 July 1980 (25.07.80)		16 September 1980 (16.09.80)
International Searching Authority ¹		Signature of Authorized Officer ²⁰
USSR State Committee For Inventions And Discoveries		

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

II.

US - 195 - 100; 260 - 89.7; 526 - 307
GB - 2 (6) P; C 3 P; C 6 F
FR - group 14 class 5, 8
CH - 37 h
AT - 39 - b; 12; 14
CA - 400; 401; 402

V. ☐ OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE ¹⁰

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. ☐ Claim numbers _____, because they relate to subject matter ¹² not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claim numbers _____, because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out ¹³, specifically:

VI. ☐ OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING ¹¹

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims of the international application.

2. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which fees were paid, specifically claims:

3. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:

Remark on Protest:

☐ The additional search fees were accompanied by applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.